مقایسهٔ رفتار زیست‌فعالی داربست‌های نانوکامپوزیتی فیبرویین / نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیم و فیبرویین / نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیم حاوی یون فلوئور برای مهندسی بافت استخوان*

نرگس جوهری[۱]		حمیدرضا مداح حسینی[۲]		علی صمدی کوچکسرایی[۳]

چکیده

افزایش شمار آسیب‌های استخوانی و توسعهٔ جراحی‌های با کمترین آسیب، تحقیقات را به سمت طراحی و ساخت کامپوزیت‌های متشکل از پلیمر زیست‌تخریب‌پذیر و سرامیک زیست‌فعال به‌عنوان داربست زیست سازگار در مهندسی بافت استخوان هدایت کرده است. هدف از پژوهش حاضر، ارزیابی و مقایسهٔ رفتار زیست‌فعالی داربست‌های نانوکامپوزیتی و زیست‌فعال فیبرویین/ نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیم و فیبرویین/ نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیم عامل‌دارشده با فلوراید است. به این منظور، ابتدا نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیم با یون فلوئور عامل‌دار شدند. سپس داربست‌ها در ۲گروه فیبرویین/ نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیم / فیبرویین و نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیم حاوی یون فلوئور ساخته شدند و رفتار زیست‌فعالی و رسوب آپاتیت بر سطح داربست‌ها با غوطه‌وری داربست‌ها در بازه زمانی ۱ تا ۲۸روز در محلول شبیه سازی شده بدن انسان (SBF) مطالعه شد. نتایج نشان داد که داربست‌های فیبرویین/ نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیم عامل‌دارشده با فلوئور در مقایسه با داربست‌های فیبرویین/ نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیم، رفتار زیست‌فعالی بهتری داشتند، به‌طوری‌که بعد از ۲۱روز غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی‌شده بدن انسان تا حدود ۴۰درصد از سطح این داربست‌ها با رسوب آپاتیت پوشش یافت.

واژه‌های کلیدی: داربست زیست‌فعال، فیبرویین، نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیم، یون فلوئور.

Bioactivity Comparison of Silk Fibroin/Nano-Titanium Dioxide and Silk Fibroin/Nano-Titanium Dioxide Containing Flour Ions for Bone Tissue Engineering

N. Johari		H. R. Madaah Hosseini		A. Samadikuchaksaraei

Abstract

Bone defects and developed surgery with low injuries have conducted researches to design and produce composites containing biodegradable polymer and bioactive ceramic, introducing as a biocompatible scaffold for bone tissue engineering. In the present study, bioactive nanocomposite scaffolds of silk fibroin/titanium dioxide nanoparticles (SF/TiO_2) and silk fibroin/titanium dioxide nanoparticles which contain flour ions (SF/TiO_2-F) were prepared. Accordingly, flour ions were bound to TiO_2 nanoparticles and both SF/TiO_2 and SF/TiO_2-F scaffolds were produced. Then, the bioactivity and apatite formation on the surface of prepared scaffolds were evaluated by immersing in simulated body fluid (SBF) for 28 days. As a resultant, SF/TiO_2-F scaffolds showed improved bioactivity in comparison with SF/TiO_2 ones, as such, after 12 days of immersion in SBF, apatite precipitations covered around 40 % of surface of prepared scaffolds.

Key Words: Bioactive scaffold, Fibroin, Titanium dioxide nanoparticles, Flour ion

* تاریخ دریافت مقاله ۹۸/۹/۲۹ و تاریخ پذیرش آن ۹۹/۷/۱۲ می‌باشد.

(۱) نویسندهٔ مسئول، استادیار، گروه مهندسی مواد، دانشکده فنی و مهندسی گلپایگان..
(۲) عضو هیئت‌علمی دانشکده مهندسی و علم مواد، دانشگاه صنعتی شریف، تهران.
(۳) عضو هیئت‌علمی دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران..

Email: johari_narges@yahoo.com

DOI: 10.22067/ma.v32i1.80791

مقدمه

از مسائل مهم در بحث سلامت انسان، ازکارافتادن اندام یا بافت بخشی از بدن است که مشکلات بسیاری را برای بیمار به بار می‌آورد. برای درمان این‌گونه معضلات، بخشی از بدن خود بیمار یا فرد دیگری را به محل آسیب‌دیده پیوند می‌زنند و گاهی نیز از ساختارهای مصنوعی که از مواد غیرزنده ساخته شده‌اند، استفاده می‌شود. این روش‌ها ممکن است موجب درمان بیمار شود، ولی گاهی با محدودیت‌ها و عوارضی از جمله عفونت در محل پیوند و پس‌زده‌شدن بافت همراه است. امروزه، در رویکرد مهندسی بافت، یک داربست متخلخل و زیست‌تخریب‌پذیر ساخته و سپس سلول‌های بافت مدنظر بر روی آن کشت داده می‌شود. با کنترل شرایط فیزیولوژیکی در خارج از بدن، بافت اولیه بر روی داربست تشکیل می‌شود و پس از کاشت در داخل بدن، با تشکیل بافت جدید، داربست تخریب می‌شود [1].

از آنجایی که استخوان شامل ۲بخش معدنی و آلی است و یک ساختار نانوکامپوزیتی را تشکیل می‌دهد، در مهندسی بافت استخوان لازم است یک ساختار نانوکامپوزیتی آلی/معدنی طراحی شود [2]. تحقیقات نشان داده است در مواردی که کامپوزیت‌ها با پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر و میکروذرات شیشهٔ زیست‌فعال‌ساخته شده‌اند، خواص زیست‌فعالی در حد انتظار از خود نشان نداده‌اند. این مسئله به‌دلیل ابعاد میکرونی ذرات و سطح ویژه پایین آن‌هاست [3]. محققان نشان داده اند که حضور نانوذرات تری‌کلسیم‌فسفات در زمینهٔ پلیمری پلی‌لاکتیک‌گلایکولیک اسید، باعث بهبود رفتار زیست‌فعالی و تخریب‌پذیری این نانوکامپوزیت، در مقایسه با کامپوزیت حاوی میکروذرات می‌شود [4]. علاوه‌براین، استفاده از نانوذرات در زمینهٔ پلیمری می‌تواند الگوبرداری از ساختمان استخوان طبیعی باشد، زیرا استخوان نانوکامپوزیتی شامل نانوبلورهای هیدروکسی‌آپاتیت در زمینهٔ پلیمری کلاژن است [5،٦]. از سوی دیگر، در ساختار بافت استخوان یون‌هایی چون Na^{+}، K^{+}، Mg^{2+}، CO_3^{2-} و F^{-1} وجود دارند که از بین این یون‌ها، CO_3^{2-} و F^{-1} تأثیر بیشتری بر رفتار و خواص بخش معدنی استخوان می‌گذارند و ثابت شده است که حضور یون‌های F^{-1} در حد خیلی کم در بافت دندان و استخوان ضروری است [2,5,7].

در بین سرامیک‌های زیست‌فعال، دی‌اکسیدتیتانیم (TiO_2)، ترکیبی زیست‌سازگار است که علاوه‌بر خواص زیست‌فعالی، خواص ضدباکتریایی مطلوبی دارد [8]. همچنین به‌علت خواص استخوان‌سازی خوب این ماده، می‌توان از آن به‌عنوان مادهٔ سازندهٔ داربست برای تحریک شکل‌گیری استخوان از بافت اطراف کمک گرفت [9]. علاوه‌بر موارد یادشده، توانایی حمایت از شکل‌گیری استخوان روی سطح کاشتنی، از فاکتورهای ضروری برای یک داربست استخوانی است [10]. شکل‌گیری یک فصل مشترک مستقیم بین استخوان و کاشتنی، به‌شدت تحت‌تأثیر شیمی و توپوگرافی سطح است [11].

در بین مواد زیست سازگار، پلیمرهای زیست سازگار معمولاً انعطاف‌پذیرند، اما در مقایسه با استخوان از استحکام کافی برخوردار نیستند. بنابراین، ساخت کامپوزیت‌هایی از پلیمر همراه با بیوسرامیک های زیست فعال مانند هیدروکسی‌آپاتیت می‌تواند باعث ایجاد ترکیب بهینه‌ای با خواص بیولوژیکی و مکانیکی ۲ماده شود. پلیمرهای طبیعی در مقایسه با پلیمرهای مصنوعی، از چسبندگی سلولی، مهاجرت و تکثیر سلولی مناسب‌تری برخوردارند، ازاین‌رو، در ساخت داربست جذابیت دارند [12]. در بین پلیمرهای طبیعی، از کلاژن و فیبرویین برای ساخت داربست‌های مهندسی بافت استفاده شده است، زیرا زیست‌سازگاری عالی دارند و استحکام کششی و انعطاف‌پذیری خوبی از خود نشان می‌دهند [13]. فیبرویین ابریشم پلیمری طبیعی است که در داروسازی و جراحی نیز استفاده می‌شود، زیرا سمیت سلولی ندارد و شباهت نزدیکی به بافت بدن دارد. تحقیقات نشان داده‌اند که فیبرویین ابریشم به‌عنوان ماده‌ای زیستی در مهندسی بافت استفاده می شود. از طرفی، این پلیمر طبیعی خواص مکانیکی، چسبندگی سلولی و مشخصه‌های رشد مناسبی دارد [14].

هدف از پژوهش حاضر، مقایسهٔ خواص زیست‌فعالی داربست‌های نانو کامپوزیتی فیبرویین/ نانوذرات دی‌اکسید تیتانیم و فیبرویین/نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیم حاوی یون فلوئور است. فیبرویین به‌عنوان پلیمری طبیعی با خواص زیست‌سازگاری عالی از ابریشم طبیعی استخراج شده است و با نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیم و نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیم که با یون فلوئور عامل‌دار شده‌اند، کامپوزیت می‌شود تا به‌عنوان داربستی برای مهندسی بافت استخوان ارزیابی شود. نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیم خواص ضدباکتریایی و زیست‌فعالی نسبتاً خوبی از خود نشان می‌دهند، اما در مقابل سلول‌های استخوانی، زیست‌سازگاری مناسبی ندارند. درحالی‌که یون فلوئور باعث بهبود زیست‌سازگاری و ترویج رشد استخوان در بافت زنده می‌شود و در بدن اثر ضدباکتریایی دارد. ازاین‌رو، انتظار می‌رود داربست بررسی‌شده در این پژوهش در مهندسی بافت استخوان منجر به ارتقای خاصیت ترویج رشد استخوان و بهبود رفتار زیست‌فعالی در مقایسه با داربست‌های بدون فلوراید شود.

مواد و روش آزمایش

برای تهیهٔ فیبرویین ابریشم ابتدا باید سریسین (صمغ ابریشم) حذف شود. برای صمغ‌زدایی الیاف ابریشم، ۳پیله کرم ابریشم بومبیکس موری (هدیه تحقیقاتی از مرکز تحقیقات ابریشم ایران، گیلان)، باز و شفیرهٔ آن‌ها خارج شد. سپس پیله‌ها ۱ساعت در ۷۵۰میلی‌لیتر محلول کربنات‌سدیم (شرکت سیگما–آلدریچ) ۰/۰۲مولار جوشان قرار گرفتند. سپس الیاف به‌دست‌آمده چندین‌بار و به‌تناوب با آب ۲بار تقطیر سرد و گرم به‌خوبی آب‌کشی و یک شب در شرایط محیط خشک شدند. برای تهیهٔ فیبرویین محلول در آب، الیاف صمغ‌زدایی‌شدهٔ ابریشم به‌نسبت ۱۰درصد وزنی در محلول ۹/۳مولار لیتیم‌بروماید (شرکت وی.دابلیو.آر. پرولابو) به‌مدت ۵ساعت در دمای ۵۵درجه سانتی‌گراد حل شدند. محلول غلیظ نمک و فیبرویین به‌مدت ۷۲ساعت در کیسهٔ دیالیز (شرکت سیگما–آلدریچ) با ضریب خروج ۱۲۰۰۰دالتون در یک لیتر آب دیونیزه قرار گرفت. آب دیونیزهٔ موجود در ظرف محتوی کیسهٔ دیالیز، ٦بار، به‌طور منظم در فاصلهٔ ۷۲ساعت تخلیه و مجدداً پر می‌شد. محلول باقی‌مانده در غشای دیالیز، فیبرویین خالص بود [15].

در مرحلهٔ بعد، سطح نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیم آناتاز (شرکت نانوایمور) با اندازهٔ ذرهٔ ۲۰ تا ۳۰نانومتر با محلول ۲درصد حجمی اسید هیدروفلوریک (شرکت مرک) با یون فلوئور عامل‌دار شد.

داربست‌های نانوکامپوزیتی فیبرویین/دی‌اکسیدتیتانیم در ۲گروه ساخته شدند. در گروه اول از نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیم خالص (SF/TiO_2) و در گروه دوم از نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیم عامل‌دارشده با یون فلوئور (SF/TiO_2-F) استفاده شد. برای این منظور، ابتدا نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیم در ۲میلی‌لیتر آب ۲بار تقطیر پراکنده شدند. سپس به محلول آبی، فیبرویین اضافه شد و یک سوسپانسیون نسبتاً پایدار از محلول فیبرویین تهیه شد. سپس، برای ساخت داربست‌های ذکرشده، سوسپانسیون حاصل در پلیت کشت سلول (شرکت سیگما–آلدریچ) ریخته شد. از پلیت کشت سلول به‌عنوان قالب استوانه‌ای برای ساخت داربست‌ها استفاده شد. قالب‌ها در دمای ۲۰- و ۸۰- درجه سانتی‌گراد منجمد و سپس به‌مدت ۱شب در خشک‌کن انجمادی (شرکت ادواردز) خشک شدند. تا این مرحله داربست‌های به‌دست‌آمده، قابل انحلال در آب بودند. زیرا در فرایند استحصال، پروتئین فیبرویین به‌دلیل ایجاد ساختار α-helix، ساختار بلورین خود را از دست می‌دهد. برای بازیابی ساختار فیبرویین، از متانول (شرکت مرک) با خلوص ۹۹/۸درصد استفاده شد. هر داربست به‌مدت ۱ساعت در متانول غوطه‌ور ماند. سپس ۲بار با آب دیونیزه شست‌وشو داده شد تا متانول از محیط خارج شود. درنهایت برای خشک‌شدن، داربست‌ها به‌مدت ۱شب در خشک‌کن انجمادی قرار داده شدند.

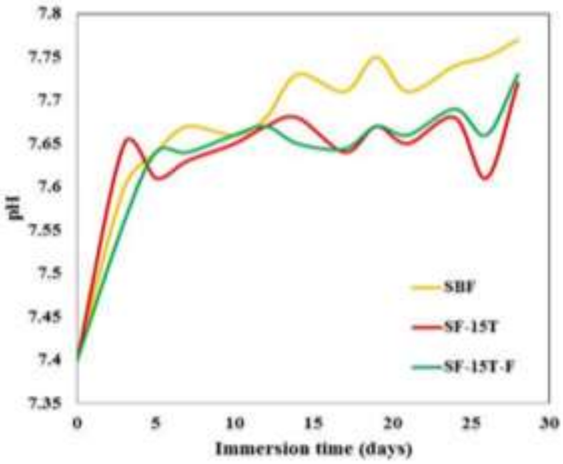
برای ارزیابی رفتار زیست‌فعالی داربست‌های SF/TiO_2 و SF/TiO_2-F در شرایط آزمایشگاهی، از محلول شبیه‌سازی‌شده بدن انسان (SBF) استفاده شد. برای ساخت محلول SBF از روش ارائه‌شده کوکوبو و تاکاداما [16] استفاده شد. در اثر پدیدهٔ رسوب از محلول فوق‌اشباع، در فصل مشترک محلول SBF و داربست غوطه‌ورشده در آن، آپاتیت‌های بیولوژیک بر سطح داربست تشکیل می‌شوند. سطح داربست غوطه‌ورشده در محلول SBF، برای بررسی میزان و مورفولوژی آپاتیت‌های بیولوژیک شکل‌گرفته بر سطح آن، در زمان‌های متفاوت غوطه‌وری داربست در محلول یادشده، با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) ارزیابی شد.

برای ارزیابی رفتار زیست‌فعالی داربست‌های نانوکامپوزیتی زیست‌فعال ساخته‌شده، تغییرات غلظت یون‌های کلسیم و فسفر در محلول SBF که در تماس با داربست‌های تهیه‌شده قرار گرفته بود، بعد از زمان‌های مختلف غوطه‌وری و پس از خارج‌کردن داربست‌های غوطه‌ورشده از محلول، با روش یون‌سنجی پلاسمای زوج القایی (ICP-OES) اندازه‌گیری شد. همچنین تغییرات غلظت یون فلوئور در محلول SBF با الکترود اختصاصی یون فلوئور دستگاه یون‌سنج، بعد از زمان‌های مختلف غوطه‌وری و پس از خارج‌کردن داربست غوطه‌ورشده از محلول سنجیده شد. تغییرات pH محلول SBF هم هر ۲روز یک‌بار با دستگاه سنجش pH اندازه‌گیری شد.

نتایج و بحث

همان‌طور که در بخش قبل اشاره شد، برای بررسی اثر نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیم بر خواص زیست‌فعالی داربست‌های نانوکامپوزیتی SF/TiO_2 و SF/TiO_2-F، این داربست‌ها به‌مدت ۲۸روز در محلول شبیه‌سازی‌شده بدن انسان (SBF) غوطه‌ور شدند. تغییرات رفتار این محلول در شرایط فیزیولوژیکی بدن، یعنی دمای ۳۷درجه سانتی‌گراد و pH برابر با ۷/٤ ارزیابی شد.

شکل ۱ نمودار تغییرات pH محلول SBF که حاوی این داربست‌ها بوده است را نشان می‌دهد.



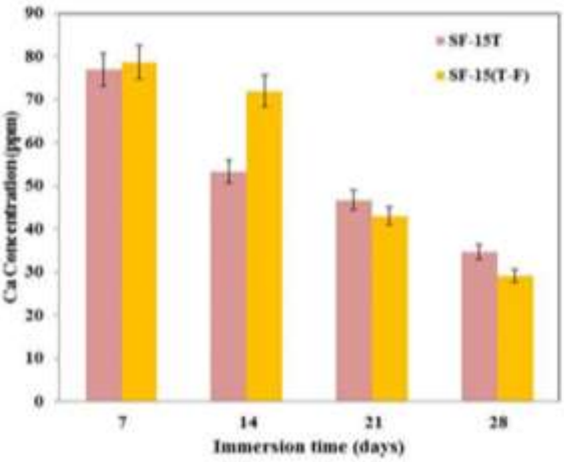
شکل ۱ تغییرات pH محلول SBF حاوی داربست‌های نانوکامپوزیتی SF/TiO2 و SF/TiO2-F

تغییرات pH محلول SBF به میزان رسوب یا انحلال آپاتیت بستگی دارد. وقتی میزان انحلال آپاتیت افزایش پیدا می‌کند، مقدار pH نیز کم می‌شود، زیرا انحلال آپاتیت اثر قلیایی روی pH محلول SBF دارد و زمانی که روی نمونه غوطه‌ور شده در محلول SBF، آپاتیت ر سوب می‌کند، مقدار pH محلول افزایش می‌یابد [17]. تغییرات pH در شکل ۱ در مدت ۲۸روز، روند افزایشی را نشان می‌دهد. یعنی در این مدت بر سطح نمونه‌ها آپاتیت رسوب کرده است.

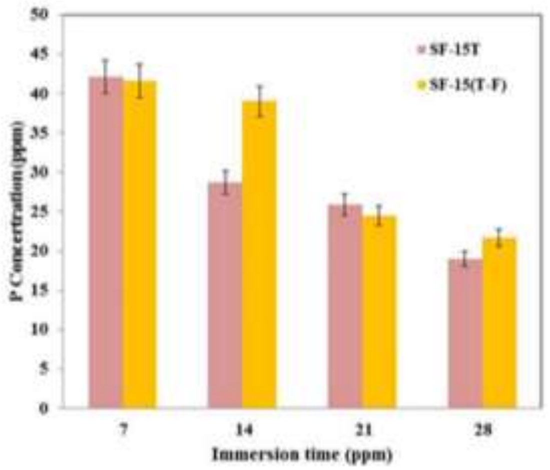
شکل ۲ و ۳ به‌ترتیب تغییرات غلظت یون‌های کلسیم و فسفر در محلول های SBF حاوی داربست های نانو کامپوزیتی SF/TiO_2 و SF/TiO_2-F، در مدت ۲۸روز غوطه‌وری را نشان می‌دهد.

مشاهده می‌شود که غلظت یون‌های کلسیم و فسفر در محلول SBF برای هر ۲نمونه، در مدت ۲۸روز غوطه‌وری کاهش پیدا کرده است. قبل از غوطه‌وری نمونه‌ها در محلول SBF، این محلول حاوی غلظت مشخصی از یون‌های کلسیم و فسفر بوده است. کاهش غلظت یون‌های کلسیم و فسفر محلول SBF در مدت غوطه‌وری، مؤید مصرف‌شدن این یون‌ها در این مدت است. یعنی ترکیبات کلسیم‌فسفات بر سطح نمونه‌های غوطه‌ورشده، رسوب کرده و جوانه‌های

آپاتیت، پس از ۲۸روز بر روی سطح نمونه‌ها شکل گرفته است. به بیان بهتر، جوانه‌های آپاتیت با مصرف‌کردن یون‌های کلسیم و فسفر موجود در محلول SBF شکل می‌گیرند [18]. اما همان‌طور که در شکل ۲ و ۳ دیده می‌شود، بعد از روز ۲۱، غلظت کلسیم و فسفر در داربست SF/TiO_2-F کمتر از داربست SF/TiO_2 است، یعنی از روز ۲۱ آپاتیت بیشتری روی داربست SF/TiO_2-F رسوب کرده است و این داربست در مقایسه با داربست SF/TiO_2 زیست‌فعال‌تر است.

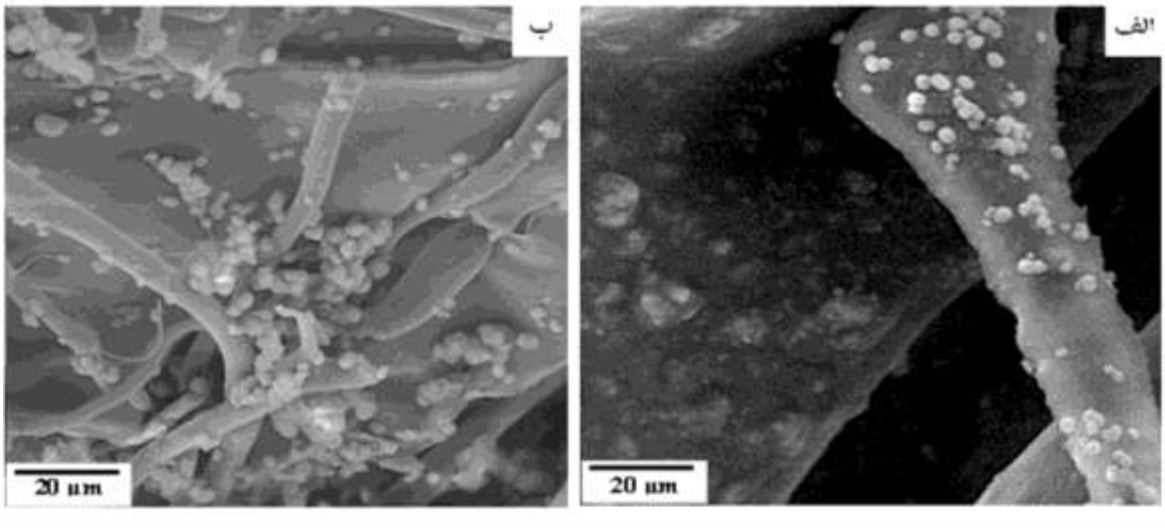


شکل ۲ تغییرات غلظت یون کلسیم در محلول SBF حاوی داربست‌های نانوکامپوزیتی SF/TiO_2 و SF/TiO_2-F



شکل ۳ تغییرات غلظت یون فسفر در محلول SBF حاوی داربست‌های نانوکامپوزیتی SF/TiO_2 و SF/TiO_2-F

مورفولوژی آپاتیت شکل‌گرفته بر سطح داربست‌های نانوکامپوزیتی SF/TiO_2 و SF/TiO_2-F پس از ۲۱روز غوطه‌وری در محلول SBF، با میکروسکوپ الکترونی روبشی بررسی شد. شکل ٤ تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی مربوط به سطوح داربست‌های نانوکامپوزیتی SF/TiO_2 و SF/TiO_2-F را پس از ۲۱روز غوطه‌وری در محلول نشان می‌دهد.

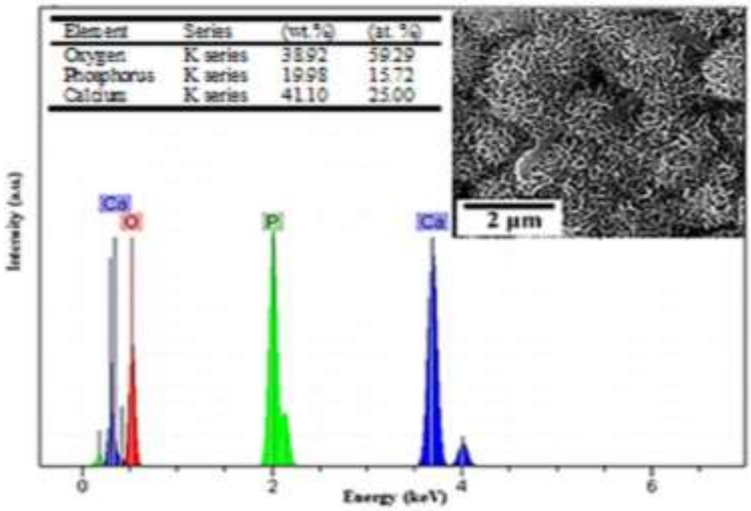


شکل ٤ تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی داربست‌های: (الف) SF/TiO_2 و (ب) SF/TiO_2-F پس از ۲۱روز غوطه‌وری در محلول SBF

در این شکل مشاهده می‌شود که داربست SF/TiO_2-F حاوی یون فلوئور، زیست‌فعال‌تر از داربست نانوکامپوزیتی SF/TiO_2 است که بدون یون فلوئور است، زیرا سطح داربست نانوکامپوزیتی SF/TiO_2-F بعد از ۲۱روز به‌شکل درخور توجهی با ذرات کروی آپاتیت پوشیده شده است، اما روی سطح داربست نانوکامپوزیتی SF/TiO_2 که بدون یون فلوئور است، بعد از ۲۱روز تعداد بسیار کمی از ذرات آپاتیت شکل گرفته است. زیرا به‌دلیل وجود فلوئور در داربست، بار منفی داربست SF/TiO_2-F در مقایسه با داربست SF/TiO_2 افزایش یافته است. درنتیجه تمایل جذب Ca^{2+} بر روی سطح این داربست بیشتر شده است. بنابراین آپاتیت سریع‌تر روی این داربست شکل می‌گیرد.

حضور گروه‌های Ti-OH روی سطح ذرات دی‌اکسیدتیتانیم موجود در داربست SF/TiO_2 به‌عنوان مکان‌های مستعد برای جوانه‌زنی آپاتیت عمل می‌کنند [16,19]. بار سطحی داربست SF/TiO_2 به‌دلیل حضور گروه Ti-OH روی سطح آن، منفی است [20]. وقتی که این داربست با بار سطحی منفی در محلول SBF غوطه‌ور می‌شود، گروه Ti-OH موجود روی سطح آن، یون‌های Ca^{2+} موجود در محلول SBF را که بار مثبت دارند، جذب می‌کند و باعث می‌شود که بار سطحی داربست مثبت و مستعد به ترکیب‌شدن با یون‌های منفی PO_4^{3-} شود و درنهایت ترکیبی کلسیم‌فسفات بر سطح داربست شکل گیرد [21]. با مصرف‌شدن یون‌های کلسیم و فسفر موجود در محلول SBF، ذرات آپاتیت رشد می‌کنند و با یون‌های کوچکی مانند سدیم، منیزم و کربنات هم پیوند برقرار می‌کنند و ترکیبی مشابه استخوان شکل می‌گیرد [22]. اما در داربست‌های SF/TiO_2-F به‌دلیل اینکه علاوه بر گروه Ti-OH یون الکترونگاتیو فلوئور نیز روی سطح ذرات داربست وجود دارد، بار سطحی منفی بیشتری روی سطح ایجاد می‌شود و یون‌های کلسیم بیشتری روی سطح داربست رسوب می‌کند.

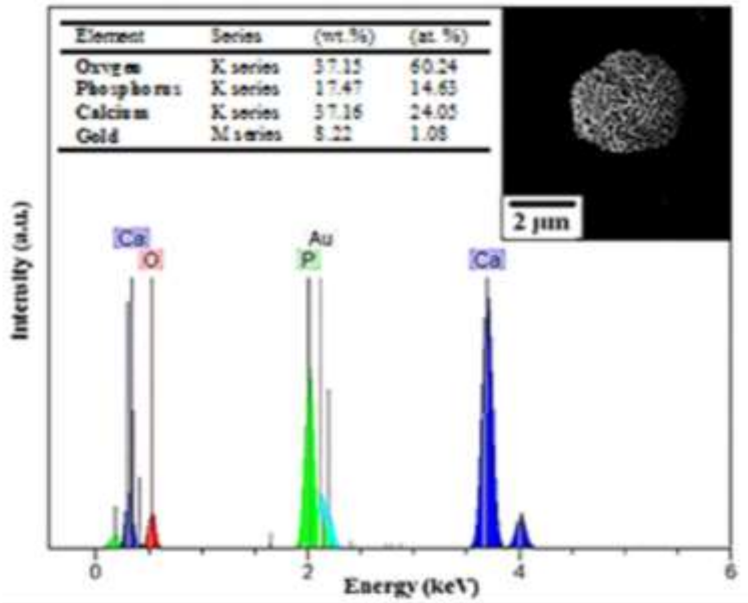
شکل ۵ آنالیز عنصری طیف‌سنجی تفکیک انرژی (EDS) ذرات شکل‌گرفته بر سطح داربست SF/TiO_2 را پس از ۲۱روز غوطه‌وری در محلول SBF نشان می‌دهد. مشاهده می‌شود که بخش عمدهٔ ذرات رسوب‌یافته روی داربست SF/TiO_2 را کلسیم و فسفر با نسبت کلسیم به فسفر ۱/۵۹ تشکیل می‌دهد. این نسبت نزدیک به نسبت کلسیم به فسفر هیدروکسی‌آپاتیت یعنی ۱/٦۷ و نشان‌دهنده شکل‌گیری هیدروکسی‌آپاتیت کم‌کلسیم (CDHA) است [23]. مورفولوژی مشابه در تحقیقات دیگر هم مشاهده شده است [24]. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که این ساختار پیش‌سازهٔ آپاتیت بیولوژیک است، زیرا شباهت ساختاری بین هیدروکسی‌آپاتیت کم‌کلسیم و هیدروکسی‌آپاتیت وجود دارد [25].



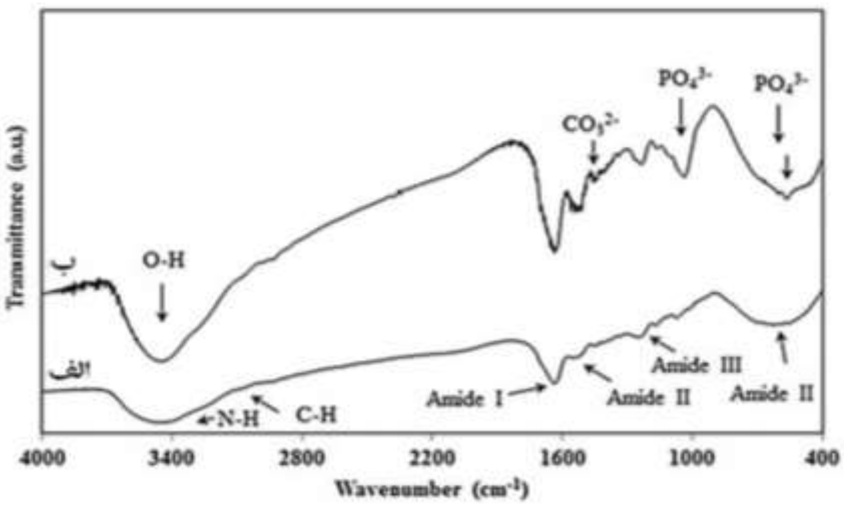
شکل ۵ آنالیز عنصری طیف‌سنجی تفکیک انرژی (EDS) ذرات شکل‌گرفته بر سطح داربست SF/TiO_2 پس از ۲۱روز غوطه‌وری در محلول SBF

شکل ٦ آنالیز عنصری طیف‌سنجی تفکیک انرژی (EDX) ذرات رسوب‌یافته روی داربست SF/TiO₂-F را پس از ۲۱روز غوطه‌وری در محلول SBF نشان می‌دهد. این شکل پیک‌های واضح کلسیم و فسفر را نشان می‌دهد. نسبت کلسیم به فسفر در این آنالیز ١/٦٤ بود. این مقدار در مقایسه با آنالیز عنصری طیف‌سنجی تفکیک انرژی داربست SF/TiO_2 به نسبت کلسیم به فسفر در هیدروکسی‌آپاتیت (١/٦٧) نزدیک‌تر است.

شکل ۷ طیف‌سنجی فروسرخ با تبدیل فوریه (FTIR) این داربست SF/TiO_2-F را پس از ۲۱روز غوطه‌وری در محلول SBF نشان می‌دهد. نتایج این طیف‌سنجی نیز شکل‌گیری گروه‌های عاملی هیدروکسی‌آپاتیت را بر سطح این داربست تأیید می‌کند.



شکل ٦ آنالیز عنصری طیف‌سنجی تفکیک انرژی (EDS) ذرات شکل‌گرفته بر سطح داربست SF/TiO_2-F پس از ۲۱روز غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی‌شده بدن انسان



شکل ۷ طیف‌سنجی فروسرخ با تبدیل فوریه (FTIR) داربست نانوکامپوزیتی SF/TiO_2-F (الف) قبل از غوطه‌وری و (ب) پس از ۲۱روز غوطه‌وری در محلول SBF

نتیجه‌گیری

رفتار زیست‌فعالی داربست‌های SF/TiO_2 و SF/TiO_2-F در محلول شبیه‌سازی‌شده بدن انسان در بازه ۲۸روز بررسی شد. درنتیجه مشاهده شد که رفتار زیست‌فعالی داربست‌های فیبرویین/نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیم و فیبرویین/نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیم حاوی یون فلوئور با افزایش زمان غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی‌شده بدن انسان افزایش یافت. همچنین رسوب کلسیم‌فسفات بر سطح داربست‌های فیبرویین/ نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیم و فیبرویین/ نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیم حاوی یون فلوئور در محلول شبیه‌سازی‌شده بدن انسان، با وجود نبود عامل کلسیم‌فسفاتی در ساختار داربست‌ها تأیید شد. از طرفی مشاهده شد که رفتار زیست‌فعالی فیبرویین/نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیم حاوی یون فلوئور در مقایسه با داربست‌های فیبرویین/نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیم بیشتر است، به‌طوری‌که رسوب کلسیم‌فسفات بر سطح داربست‌های فیبرویین/نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیم حاوی یون فلوئور بعد از ۲۱روز غوطه‌وری در SBF، حدود ۴۰درصد سطح داربست‌ها را پوشش داد.

مراجع

1. Hench, L., Jones, J., "Biomaterials, artificial organs and tissue engineering". Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, New York, pp. 48-58, (2005).
2. Isa, Z. M., Schneider, G. B., Zaharias, R., Seabold, D., Stanford, C. M., "Effects of fluoride-modified titanium surfaces on osteoblast proliferation and gene expression", *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, Vol. 21(2), pp. 203-211, (2006).
3. Krause, D., Thomas, B., Leinenbach, C., Eifler, D., Minay, E. J., Boccaccini, A. R., "The electrophoretic deposition of Bioglass® particles on stainless steel and Nitinol substrates", *Surface and Coatings Technology*, Vol. 200 (16), pp. 4835-4845, (2006).
4. Yang, Y., Zhao, Y., Tang, G., Li, H., Yuan, X., Fan, Y., "In vitro degradation of porous poly (l-lactide-co-glycolide)/β-tricalcium phosphate (PLGA/β-TCP) scaffolds under dynamic and static conditions", *Polymer Degradation and Stability*, Vol. 93 (10), pp. 1838-1845, (2008).
5. Baron, R. D. D. S., "Anatomy and ultrastructure of bone", *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism 4*, pp. 3-10, (1999).

۶. جعفری‌نژاد، ش.، "عناصر پایه در فناوری نانو و نانوکامپوزیت‌های پلیمری"، انتشارات سیمای دانش, (۱۳۸۸).

7. Lamolle, S. F., Monjo, M., Rubert, M., Haugen, H. J., Lyngstadaas, S. P., Ellingsen, J. E., "The effect of hydrofluoric acid treatment of titanium surface on nanostructural and chemical changes and the growth of MC3T3-E1 cells", *Biomaterials*, Vol. 30 (5), pp. 736-742, (2009).
8. Manso, M., Langlet, M., Fernandez, M., Vazquez, L., Martínez-Duart, J. M., "Surface and interface analysis of hydroxyapatite/TiO 2 biocompatible structures", *Materials Science and Engineering*, Vol. 23 (3), pp. 451-454, (2003).
9. Fostad, G., Hafell, B., Førde, A., Dittmann, R., Sabetrasekh, R., Will, J., Ellingsen, J. E., Lyngstadaas, S. P., Haugen, H. J., "Loadable TiO_2 scaffolds—a correlation study between processing parameters, micro CT

analysis and mechanical strength", *Journal of the European Ceramic Society*, Vol. 29 (13), pp. 2773-2781 (2009).

10. Barrere, F., Mahmood, T. A., De Groot, K., Van Blitterswijk, C. A., "Advanced biomaterials for skeletal tissue regeneration: Instructive and smart functions", *Materials Science and Engineering*, R: Reports, Vol. 59 (1), pp. 38-71, (2008).
11. Sul, Y. T., Kang, B. S., Johansson, C., Um, H. S., Park, C. J., Albrektsson, T., "The roles of surface chemistry and topography in the strength and rate of osseointegration of titanium implants in bone", *Journal of biomedical materials research Part A*, Vol. 89 (4), pp. 942-950, (2009).
12. Schmidt, C. E., Baier, J. M., "Acellular vascular tissues: natural biomaterials for tissue repair and tissue engineering", *Biomaterials*, Vol. 21 (22), pp. 2215-2231, (2000).
13. Seliktar, D., Black, R. A., Vito, R. P., Nerem, R. M., "Dynamic mechanical conditioning of collagen-gel blood vessel constructs induces remodeling in vitro", *Annals of biomedical engineering*, Vol. 28 (4), pp. 351-362, (2000).
14. Yan, S., Zhang, Q., Wang, J., Liu, Y., Lu, S., Li, M., Kaplan, D. L., "Silk fibroin/chondroitin sulfate/hyaluronic acid ternary scaffolds for dermal tissue reconstruction", *Acta biomaterialia*, Vol. 9 (6), pp. 6771-6782, (2013).
15. Rockwood, D. N., Preda, R. C., Yücel, T., Wang, X., Lovett, M. L., Kaplan, D. L., "Materials fabrication from Bombyx mori silk fibroin", *Nature protocols,* Vol. 6 (10), pp. 1612-1631, (2011).
16. Kokubo, T., Takadama, H., "How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?", *Biomaterials*, Vol. 27 (15), pp. 2907-2915, (2006).
17. Fathi, M. H., Hanifi, A., Mortazavi, V., "Preparation and bioactivity evaluation of bone-like hydroxyapatite nanopowder", *Journal of materials processing technology*, Vol. 202 (1), pp. 536-542, (2008).
18. Kokubo, T., Kim, H. M., Kawashita, M., "Novel bioactive materials with different mechanical properties", *Biomaterials*, Vol. 24 (13), pp. 2161-2175, (2003).
19. Zhang, P., Zhang, Z., Li, W., Zhu, M., "Effect of Ti-OH groups on microstructure and bioactivity of TiO 2 coating prepared by micro-arc oxidation", *Applied Surface Science*, Vol. 268, pp. 381-386. (2013).
20. Kasuga, T., Kondo, H., Nogami, M., "Apatite formation on TiO 2 in simulated body fluid", *Journal of Crystal Growth*, Vol. 235 (1), pp. 235-240, (2002).
21. Xie, Y., Liu, X., Chu, P. K., Ding, C., "Nucleation and growth of calcium–phosphate on Ca-implanted titanium surface", *Surface science*, Vol. 600 (3), pp. 651-656, (2006).
22. Kim, H. M., Himeno, T., Kokubo, T., Nakamura, T., "Process and kinetics of bonelike apatite formation on sintered hydroxyapatite in a simulated body fluid", *Biomaterials,* Vol. 26 (21), pp. 4366-4373, (2005).
23. Diba, M., Kharaziha, M, Fathi, M. H., Gholipourmalekabadi, M., Samadikuchaksaraei, A., "Preparation and characterization of polycaprolactone/forsterite nanocomposite porous scaffolds designed for bone tissue regeneration", *Composites Science and Technology*, Vol. 72 (6), pp. 716-723, (2012).

24. Sergey, V. D., "Self-setting calcium orthophosphate formulations: cements, concretes, pastes and putties", *International Journal of Materials and Chemistry*, Vol. 1 (1), pp. 1-48, (2011).
25. Hong, C., Noboru, K., "A biodegradable porous composite scaffold of PGA/β-TCP for bone tissue engineering", *Bone*, Vol. 46 (2), pp. 386-395, (2010).